

①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑪ **DE 37 16938 A1**

⑳ Aktenzeichen: P 37 16 938.6  
㉑ Anmeldetag: 20. 5. 87  
㉒ Offenlegungstag: 26. 11. 87

㉓ Int. Cl. 4:  
**A61 K 35/74**  
A 23 C 9/20  
// (C12N 1/20,  
C12R 1:04)C12R 1:22  
5

DE 37 16938 A1

③⑥ Unionspriorität: ③② ③③ ③①  
23.05.86 CH 2084/86

⑦① Anmelder:  
Heise, Dieter, Dr.; Lauer, Eckhard, Dr., 1000 Berlin,  
DE

⑦④ Vertreter:  
Zumstein, F., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Klingseisen, F.,  
Dipl.-Ing., Pat.-Anw., 8000 München

⑦② Erfinder:  
gleich Anmelder

⑤④ **Arzneimittel zur Behandlung von Koliken im Säuglingsalter**

Die Erfindung betrifft ein Arzneimittel zur Behandlung von Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen, welches vermehrungsfähige nicht-gasbildende Gram-positive Intestinalbakterien, insbesondere Bifiduskeime, enthält und die Verwendung dieser Bakterien zur Herstellung eines Arzneimittels gegen Dreimonatskoliken.

DE 37 16938 A1

## Patentansprüche

1. Arzneimittel zur Behandlung von Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen, dadurch gekennzeichnet, daß sie als vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien Gram-positive Intestinalbakterien enthalten.
2. Arzneimittel zur Behandlung von Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen, dadurch gekennzeichnet, daß sie als nichtgasbildende Bakterien Bifidobakterien-, Eubakterien-, Enterokokken- und homofermentierende Lactobakterien-Arten enthalten.
3. Arzneimittel zur Behandlung von Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen, dadurch gekennzeichnet, daß sie als vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien Stämme des Bifidobacterium longum Reuter enthalten.
4. Verwendung von Gram-positiven Intestinalbakterien als vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien für die Herstellung eines Arzneimittels gegen Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen.
5. Verwendung von Bifidobakterien-, Eubakterien-, Enterokokken- und homofermentierenden Lactobakterien-Arten als vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien für die Herstellung eines Arzneimittels gegen Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen.
6. Verwendung von Bakterienstämmen des Bifidobacterium longum Reuter als vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien für die Herstellung eines Arzneimittels gegen Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen.
7. Verwendung von Gram-positiven Intestinalbakterien als vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien gegen Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen.
8. Verwendung von Bifidobakterien-, Eubakterien-, Enterokokken- und homofermentierenden Lactobakterien-Arten als vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien gegen Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen.
9. Verwendung von Bakterienstämmen des Bifidobacterium longum Reuter als vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien gegen Dreimonatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen.

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Arzneimittel, enthaltend Gram-positive, vermehrungsfähige, nicht-gasbildende Bakterien der Intestinalflora, vorzugsweise Bifiduskeime, zur Behandlung von Koliken im zarten Säuglingsalter und die Verwendung solcher Bakterien.

Es ist bekannt daß ein hoher Prozentsatz von Säuglingen in den ersten Lebensmonaten plötzlich von offensichtlich organisch unmotivierten Koliken befallen wird. Die jeweiligen, vorwiegend nach den Mahlzeiten auftretenden Bauchbeschwerden sind u. a. begleitet von Schrei-Attacken der Säuglinge. Die Häufigkeit solcher Koliken liegt in verschiedenen zivilisierten Ländern zur Zeit zwischen 20 und 30% (Rubin et Prendergast, Child Care Health Dev. 10 (4), 219—226 (1984). Bezeichnet wird diese Erscheinung in der medizinischen Fachwelt als Drei-Monats-Kolik, Postprandialer Meteorismus oder auch Trimenon-Kolik (v. Loewenich et al., Padiat. Prax. 26, 477—486 (1982) or "Infantile colic" (Asnes u. Mones, J. Dev. Behav. Pediatr. 4, 57—62 (1983)).

Die Ursachen für diese Störungen des Allgemeinzustandes sind der medizinischen Wissenschaft bisher nicht bekannt. Diskutiert wurden bisher Darmmotilitätsstörungen oder vermehrtes Luftschlucken, gestörte Mutter-Kindbeziehungen oder Lebensmittelallergien, aber auch Unreife des zentral-nervösen Systems des Säuglings.

Wegen der unklaren Ursachen wurden diese Koliken im allgemeinen bisher nur symptomatisch behandelt.

Bis jetzt ist nur gesichert, daß die Bauchbeschwerden offensichtlich auf Blähungen, die das Kind sehr stark quälen, zurückzuführen sind und, daß Entspannungen nur dann auftreten, wenn die Gase aus dem Darm des Kindes entweichen.

Es wurde nun überraschenderweise festgestellt, daß diese durch Blähungen erzeugten Bauchbeschwerden durch Zufuhr nicht-gasbildender Bakterien, beispielsweise Bifidobakterien völlig beseitigt und erneute Blähbeschwerden verhindert werden konnten. Es liegt daher die Annahme nahe, daß die vermehrte Gasbildung auf überdurchschnittliche Aktivitäten von gasbildenden Bakterien in der sich noch in Entwicklung befindlichen Darmflora des Säuglings zurückzuführen ist.

Als gasbildende Bakterien kommen alle Arten von Enterobacteriaceae, Clostridien sowie heterofermentative Lactobakterien oder Methanbakterien u.a.m. in Frage.

Fügt man der Säuglingsnahrung eine wirksame Konzentration an Gram-positiven, vermehrungsfähigen, nicht-gasbildenden Bakterien der Intestinalflora, beispielsweise Bifidobakterien zu, so gehen überraschenderweise die Schmerzen verursachenden Blähungen zurück und bleiben schließlich ganz aus. Das Wirkamkeitsprinzip ist komplexer Art:

1. Die zugeführten Gram-positiven, nicht-gasbildenden Bakterien, beispielsweise Bifidobakterien, substituieren die sich noch in Entwicklung befindliche Intestinalflora in günstiger Weise.
2. Die zugeführten Gram-positiven, nicht-gasbildenden Bakterien, beispielsweise Bifidobakterien, bilden als Stoffwechselprodukte Essig- und Milchsäure, die überraschenderweise gasbildende Bakterien, wie z. B. der Art Lactobacterium fermentum und Methanbacterium, unterdrücken.
3. Die zugeführten Gram-positiven, nicht-gasbildenden Bakterien, beispielsweise Bifidobakterien, wirken regulierend auf Enzyme des Darmtrakts, die den Abbau der Nahrungsbestandteile beschleunigen.
4. Die zugeführten Gram-positiven, nicht-gasbildenden Bakterien, beispielsweise Bifidobakterien, nutzen das im Darm vorhandene Kohlendioxid zum Wachstum.
5. Die zugeführten Gram-positiven, nicht-gasbildenden Bakterien, beispielsweise Bifidobakterien, sorgen

für ein derartig niedriges Redoxpotential, daß gasbildende Mikroorganismen in ihrer Vermehrung behindert werden.

Die erfindungsgemäß verwendeten vermehrungsfähigen, nicht-gasbildenden Bakterien sind Stämme Gram-positiver Intestinalbakterien, beispielsweise etwa Stämme von Bifidobakterien-, Eubakterien-, Enterokokken- und homofermentierenden Lactobakterien-Arten, welche zur Behandlung von 3-Monatskoliken (infantile colic) bei Säuglingen geeignet sind.

Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung von Bifiduskeimen der Art Bifidobacterium longum Reuter in einem Arzneimittel, welches zur Behandlung von 3-Monatskoliken bei Säuglingen geeignet ist.

Eingeschlossen ist die Verwendung zur Herstellung von einem Arzneimittel, welches zur Behandlung von 3-Monatskoliken beim Säugling geeignet ist.

Beispielsweise wird das für die Herstellung des Arzneimittels als Wirkstoff verwendete Bifidobacterium longum Reuter nach 1963 nach seiner Isolierung aus der Faeces von Säuglingen wie folgt kultiviert:

Ein Stamm der Art Bifidobacterium longum Reuter 1963 — synonyme Bezeichnung Lactobazillus bifidus — wird in zwei Litern keimfrei gemachter Milch, angereichert mit 60 g Fleischpepton, 18 Stunden lang bei etwa 37—39°C kultiviert. Nach 15 Stunden und am Ende der Kultivierung, nach 18 Stunden, wird mit einer 35-%igen Natriumhydrogencarbonatlösung die angesäuerte Kultur bis zu einem pH-Wert von 5 abgepuffert. Das fermentierte, joghurtähnliche Produkt wird mit einer Lösung, bestehend aus 7,5 g Tylose (Carboxymethylcellulose) und 875 g eines Disaccharides, gelöst in 1,25 l Wasser, vermischt und in einer Gefriertrocknungsanlage gefriergetrocknet. Die Temperatur der Haupttrocknung beträgt 0°C. Das Gesamtvolumen der beschickten Probemenge beträgt etwa 4 Liter. Nach Lyophilisieren werden 1,20 kg getrocknetes Produkt erhalten. Die Keimzahl liegt bei etwa  $2 \times 10^{10}$  Keimen/g.

Das hygroskopische, sehr gut wasserlösliche, beigefarbene, süßlich aromatisch riechende und süß schmeckende Produkt, weist eine Restfeuchte von etwa 4% auf. Zum Schutz vor Keimzerfall und vor dem Feuchtwerden wird es in Exsikkatoren über Phosphorpentoxid im Vacuum bei 4—6°C gelagert.

Der erhaltene Wirkstoff wird in einer täglichen Dosis zwischen 50—1500 mg, insbesondere zwischen 150—850 mg, vorzugsweise in der Einzeldosierung zwischen 50—300 mg, verabreicht und kann als Arzneimittel beispielsweise in Form von Kapseln formuliert werden. Der Kapselinhalt besteht aus:

Vermehrungsfähigen Keimen von Bifidobacterium longum Reuter	$5 \times 10^8$ bis $5 \times 10^9$ Keimen/g	30
Kohlenhydrate (Lactose, Saccharose)	68,5%	35
Gesamteiweiß aus Milch und Fleischpepton	14,9%	
Fette aus Milch und Fleischpepton	7,2%	40
Mineralstoffe (Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium)	5,1%	
Wasser	4,3%	

#### Herstellung 45

Das grob zerkleinerte Produkt wird auf einer Sieb-Maschine gesiebt, mit 0,1% Magnesiumstearat vermischt und in Kapseln abgefüllt. Das Füllen der Kapseln erfolgt auf einer Kapselfüllmaschine. Es werden farblos-transparente Hartgelatine-kapseln der Größe 4 (hergestellt von der Firma E. Lilly GmbH) verwendet. Das durchschnittliche Kapselgewicht beträgt 210 mg; das Gewicht der Füllung ist 170 mg. Die Analyse der Keimzahl ergibt einen Wert um  $3 \times 10^8$  Keime/Kapsel (Bifidobacterium longum Reuter).

Die erhaltenen Kapseln werden in Fläschchen zu je 30 Stück abgefüllt und mit einem speziellen Verschuß vor Feuchtigkeit geschützt.

Die in den Fläschchen abgefüllten Kapseln werden bei Kühltemperatur gelagert.

Zur Anwendung bei erkrankten Säuglingen wird der Kapselinhalt der geöffneten Kapsel entnommen und mit etwas einzunehmender Flüssigkeit (Milch oder Tee) vermischt und als Zusatz zur Nahrung verabreicht.

#### Beispiel 1

Der Säugling F.O. (geb. am 3.8.1983), der mit Brustmilch und zusätzlich Flaschenkost ernährt wird, leidet ab der 5. Lebenswoche an postprandialen Koliken mit einer Häufung in den Abend- und Nachtstunden. Im Mittel treten die Koliken in Abständen von 2 Stunden auf. Die Behandlung beginnt in der 8. Lebenswoche mit täglich  $1 \times 170$  mg Bifiduskeimen lyophilisiert. Die Koliken klingen innerhalb von 4 Behandlungstagen ab. Trotz völligem Ausbleiben der Koliken erfolgt eine Weiter-Behandlung bis zur 13. Lebenswoche mit 170 mg Bifiduslyophilisat 1—2 mal wöchentlich. Koliken traten nach der 8. Lebenswoche nicht mehr auf.

## Beispiel 2

Der Säugling N.F. (geb. am 28.3.1985) wird 6 Wochen lang ausschließlich mit Brustmilch ernährt. Anschließend wird die Ernährung wegen Brustdrüsenentzündung voll auf Flaschennahrung umgestellt. In der 7. Lebenswoche, d. h. 1 Woche nach Ernährungsumstellung, treten Koliken auf, im Mittel in Abständen von 2 Stunden, auch nachts (von Schrei-Attacken und lang anhaltendem Weinen begleitet). Die Behandlung beginnt in der 8. Lebenswoche mit zunächst  $3 \times 100$  mg Bifiduslyophilisat und wird ab 9. Lebenswoche mit  $5 \times 170$  mg Bifiduslyophilisat fortgesetzt. Nach der 9. Lebenswoche erfolgt ein Abklingen der Koliken. Danach waren keine Koliken zu beobachten.

## Beispiel 3

Der Säugling A.K. (geb. 31.8.1985), der ausschließlich mit Brustmilch ernährt wird, leidet bereits in der 2. Lebenswoche an ausgeprägten Koliken (Schreiattacken, blaurotes Gesicht) in unregelmäßigen kurzen Abständen. Bei weinerlicher Grundstimmung sind die Schrei-Attacken häufig. In der 4. Lebenswoche erhält der Säugling 3 mal täglich 100 mg Bifiduslyophilisat in wenig Wasser auf einem Teelöffel gelöst. Nach 3 Behandlungstagen ist der Säugling bereits völlig beschwerdefrei. Koliken treten keine mehr auf.